

APROXIMACIÓN A LA CITOLOGÍA PRÁCTICA.

M.^a Álvarez J. Rueda,

Clínica Veterinaria Moratalaz.
C. Marroquina, 26
28030 Madrid.

RESUMEN.

Este trabajo es una revisión de los métodos y aplicaciones de la citología en la clínica diaria.

Palabras clave: Citología; Punción; Rapidez.

ABSTRACTS.

In this paper the method and applications of cytology in our clinic are described.

Key Words: Cytology; Puncture; Quickness.

INTRODUCCIÓN.

El examen citológico en la clínica veterinaria puede ser un método de rutina a la hora de establecer el diagnóstico de determinados procesos. Y, aún en los casos en los que el diagnóstico no sea seguro, guiará al clínico a elegir otras investigaciones⁽¹⁾.

La mayoría de las veces tomar la muestra para una citología es fácil, rápido y barato^(1, 2, 4, 8) (Figs. 1, 2, 3, 4).

Hay muchos estudios, tanto de medicina humana como veterinaria, que defienden la seguridad e inocuidad del examen citológico como método de diagnóstico frente a las técnicas de biopsia.

La aspiración con aguja fina implica mucho menos riesgo que la realizada con aguja de biopsia, especialmente si se trata de órganos internos^(2, 6, 8), siendo también mucho menor la probabilidad de provocar una metástasis, al aspirar una neoplasia^(2, 6) (Figs. 5 y 7).

Se puede hacer citología de muchos tejidos y líquidos orgánicos. Nosotros evaluamos citológicamente líquidos ascíticos, pleurales, cefalorraquídeo, sinovial... (Fig. 1), así como médula ósea, ganglio linfático o cualquier nódulo o masa accesible (Fig. 1).

Podemos estudiar el sistema respiratorio citológicamente, mediante exudados nasales, aspirados transtraqueales y lavados bronquiales, incluso punción transpleural. Para realizar alguna de estas técnicas tendremos que tranquilizar o incluso anestesiarse al animal, lo que no será preciso en las que citaremos seguidamente.

En el aparato reproductor realizamos citologías del fluido prostático, aspirado testicular y secreciones vaginales y mamarias. Las células del sedimento urinario pueden indicarnos alteraciones a este nivel (Fig. 4).

En el aparato locomotor podemos ayudar en el diagnóstico de procesos en los que se involucra el hueso o músculo (Fig. 6).

Naturalmente, la citología también tiene sus limitaciones, siendo muy importante saber reconocerlo.

En ocasiones, la citología nos diferenciará una inflamación de una neoplasia, obteniendo un diagnóstico. Otras veces nos servirá para conocer la evolución y el pronóstico; pero a veces, necesitaremos de una biopsia para identificar o confirmar una lesión (Fig. 3).

MATERIAL Y MÉTODOS.

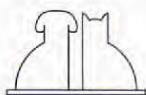
Las técnicas para recoger muestras para una citología difieren según la localización anatómica y el tipo de tejido.

Impronta.

Esta técnica la realizamos en lesiones externas o en tejidos procedentes de cirugía.

Recogemos las muestras fácilmente pero con mucha mayor contaminación que realizando una aspiración con aguja fina.

Muchas veces las improntas de lesiones superficiales sólo reflejan la infección bacteriana secundaria y/o la inflamación.



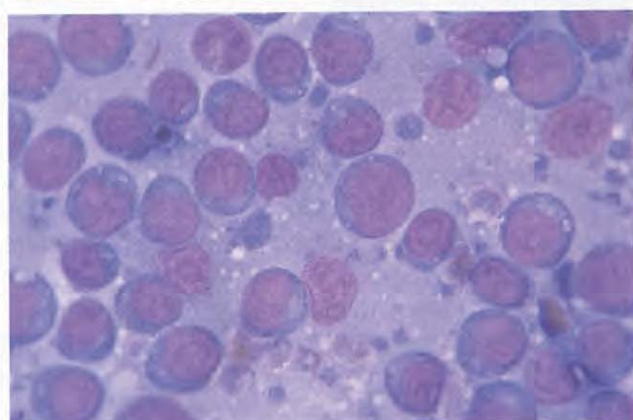
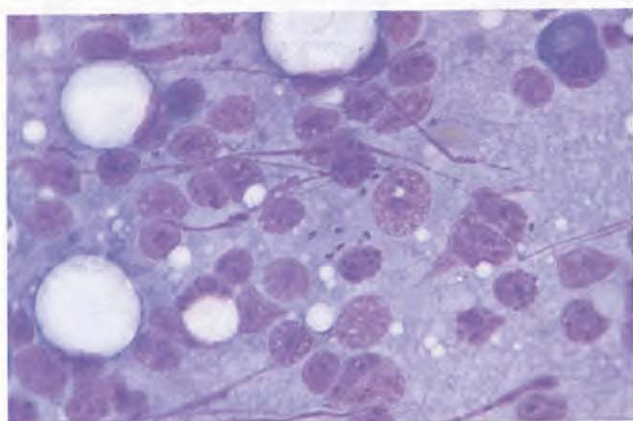


Fig. 1. Citologías de punción de ganglio. a) Apareciense abundantes leishmanias incluidas en los macrófagos (puntos más azulados en zona central de la fotografía). b) Citología característica de linfoma. Se pueden apreciar numerosos linfoblastos con prominentes nucleolos.

Las úlceras serán improntadas antes y después de ser limpiadas. En el caso de tejidos procedentes del quirófano, antes de realizar la impronta, los limpiaremos de sangre y de líquidos, que nos impedirían obtener una buena población celular⁽⁶⁾.

Raspados.

Hacemos los raspados de lesiones externas con una aguja de bisturí. Esta técnica es la habitual para estudiar parásitos en la piel.

También podemos preparar citologías, mediante un hisopo estéril, generalmente humedecido en solución fisiológica. Pasamos el hisopo por la lesión y luego lo rodamos suavemente sobre el porta.

Si la lesión está muy húmeda, no hay que mojar el hisopo. Mediante esta técnica se recoge mucho material contaminante y no es muy útil para estudiar la citología.

La utilizamos para las citologías vaginales de perras y gatas. Introducimos el hisopo en



Fig. 2a. Radiografía de un perro con cojera de apoyo, con dolor a la palpación de la rodilla. Se aprecian signos de artrosis.



Fig. 2b. Citología del líquido sinovial con carácter inflamatorio, en la que se pueden apreciar gran cantidad de neutrófilos.

la vagina con ayuda de un vaginoscopio, procurando no tocar la vulva, tomamos la muestra, la pasamos a un porta y observamos si hemos obtenido una buena imagen celular de la zona, que nos sirva para ver posibles alteraciones o situación del ciclo estral.

Aspiración de masas.

Esta es la técnica con la que conseguimos muestras con menor contaminación. Utilizamos generalmente agujas de 25/9 y jeringas de 10 o 20 ml de tres cuerpos para hacer mayor succión, aunque dependerá del tipo de muestra que vamos a recoger.

Antes de proceder a la aspiración, rasuramos la zona y desinfectamos⁽⁶⁾ (Fig. 3).

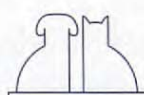




Fig. 3a. Fotografía del momento de punción de médula ósea. Deberemos rasurar y esterilizar la zona. Apreciarse como el cono de la aguja está teñido de sangre.

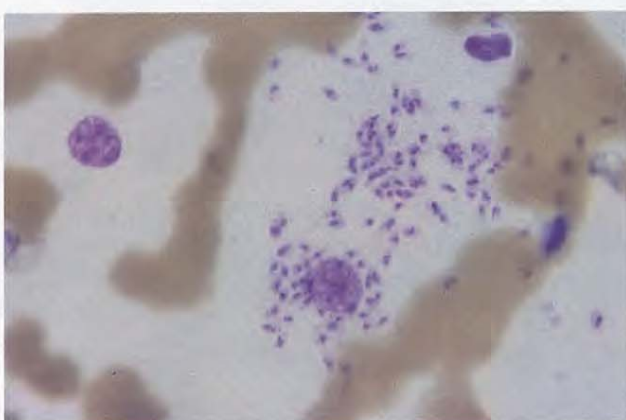


Fig. 3b. Citología de la médula ósea de un perro con leishmanias. Se pueden ver cantidad de leishmanias dispersas por toda la preparación.

Cuando sea posible, sujetaremos la masa para poder dirigir mejor la dirección de la aguja que será introducida en el centro de la masa unida a la jeringa. Una vez en la masa, aspiramos, y, si la masa tiene tamaño suficiente como para no correr peligro de aspirar fuera de ella, repetimos el aspirado en distintos puntos sin sacar la aguja.

Para sacar la aguja, soltamos la jeringuilla, dejando de hacer presión. Si no lo hacemos así, aspiraremos material de fuera de la masa⁽¹⁾.

A veces, la cantidad de muestra recogida apenas llena el cono de la aguja⁽¹⁾, pero puede ser suficiente. Separamos la jeringa, la cargamos de aire, unimos la aguja y expulsamos el contenido en uno o varios portas, extendemos y teñimos.

La extensión puede hacerse con distintas técnicas y la tinción será una de tipo Romanowsky.

Nosotros, generalmente, utilizamos Diff-



Fig. 4a. Cistografía de contraste positivo de una perra con un tumor de vejiga. Apreciarse la imagen por sustracción en la zona craneoventral de la vejiga.



Fig. 4b. Ecografía de la vejiga de la misma perra que (4a), en la que se puede apreciar una zona ecogénica en la luz vesical. Para confirmar la presencia de tumor, podremos realizar una citología del sedimento urinario o, en caso negativo, una punción guiada.



Fig. 4c. Citología del sedimento urinario de una perra con tumor vesical.

Quick, dejando algunos portas sin teñir por si requieren otro tipo de tinción.

Al tratarse de tinción rápida, en unos minutos sabremos si la muestra es válida en cantidad y calidad. Si no es así, haremos otra punción⁽⁸⁾.

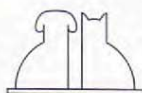




Fig. 5a. Radiografías de tórax lateral de un gato de 11 meses, con problemas respiratorios. Apreciéase un aumento de la radiodensidad de toda la zona anterior al corazón, incluida la mediastinal.



Fig. 5b. Ecografía de la zona afectada del mismo animal, en la que se puede apreciar un aumento de densidad, con ecogenicidad variable y aspecto de masa anterior al corazón.

Si la muestra obtenida es un fluido, como en el caso de líquido ascítico, cefalorraquídeo o sinovial, se recogerá una parte en EDTA y otra parte en otro tubo.

Realizaremos la extensión, bien directamente del fluido o, si se trata de un líquido de baja concentración celular, centrifugaremos y extenderemos el sedimento.

El fluido deberá examinarse lo antes posible después de su recolección.

En ocasiones, para recoger la muestra es necesario que nos ayudemos de técnicas más complejas, como puede ser la radiografía, ecografía, o mediante endoscopia⁽¹⁾ (Figs. 5, 6, 7, 8, 9).

Evaluación microscópica.

Una vez que la preparación esté teñida y seca, se examina a pocos aumentos⁽¹⁾ para comprobar la tinción en todas las zonas y ver si hay áreas con distinta celularidad.



Fig. 6a. Radiografía del cúbito y radio de un perro, en la que se puede apreciar una osteoproliferación y una pérdida de la cortical, con aumento de la radiolucidez (osteólisis).

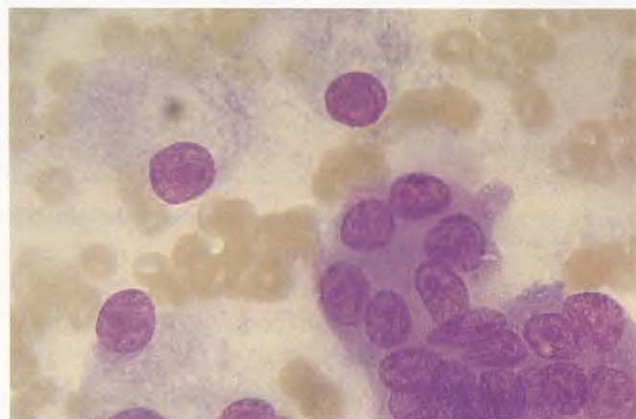


Fig. 6b. Citología de la punción de la zona afectada de la radiografía anterior, en la que se pueden apreciar diferentes tamaños de nucleares y nucleolos de diferentes formas. Imágenes características de un tumor óseo.

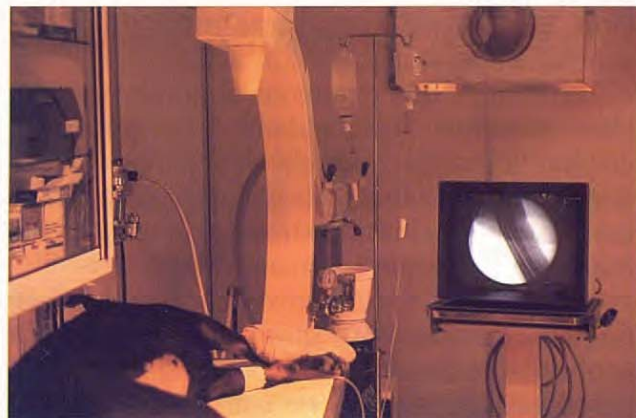


Fig. 6c. En el caso de afecciones óseas, el intensificador de imagen nos puede ayudar para realizar el PA AF en la zona exacta.





Fig. 7a. Punción guiada con ecografía de un quiste hepático. La aguja puede verse en la ecografía como una línea hiperecogénica, sobre todo cuando hay líquido alrededor, como en este caso.

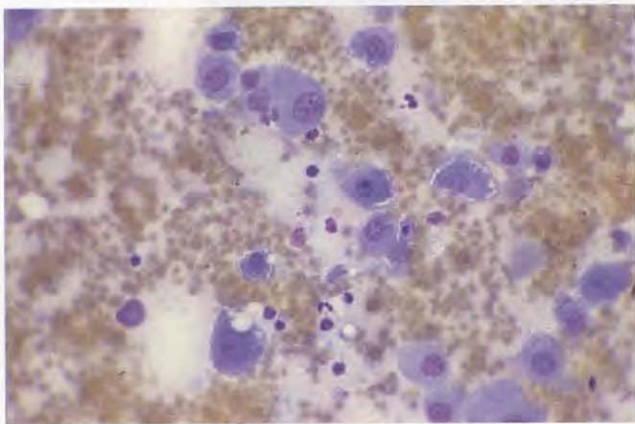


Fig. 7b. Citología de una masa hepática con características de malignidad. Se trataba de un carcinoma hepatocelular.

Muchas veces los bordes y las zonas más finas de la preparación son las que están mejor teñidas y las que podrán ser evaluadas adecuadamente.

Naturalmente, si el material recogido no nos parece adecuado, repetiremos la punción, por lo que el paciente esperará a que veamos si las citologías son aceptables⁽¹⁾.

Tendremos que examinar el número de células presentes (celularidad), la composición celular, la morfología individual de las células, si se presentan sueltas o en grupos, racimos, etc.,⁽³⁾ y el material extracelular, eso es, el fondo sobre el que se encuentran⁽¹⁾.

Utilizaremos los objetivos de mayores aumentos⁽²⁾. En caso de que vayamos a utilizar aceite de inmersión es recomendable poner un cubreobjetos, para no estropear la preparación.



Fig. 8a. Momento en el que se está realizando una PAAF guiada con ecografía.



Fig. 8b. Detalle del accesorio para punciones guiadas, aplicado al transductor. Se debe utilizar fundamentalmente cuando queremos realizar PAAF de nódulos pequeños y no palpables.

INTERPRETACIÓN.

La interpretación de una citología requiere conocimientos de la morfología normal celular y experiencia que adquiriremos con muchas horas de microscopio. Es importante saber reconocer nuestras limitaciones y las de la citología⁽²⁾.

Generalmente, en pocos minutos sabremos si se trata de un proceso inflamatorio o neoplásico. Este es, probablemente, el resultado más importante de una citología^(2, 4).

La respuesta inflamatoria se caracteriza por una población celular en la que, mayoritariamente, veremos neutrófilos degenerados o no, linfocitos, eosinófilos, monocitos y macrófagos (Fig. 2b).

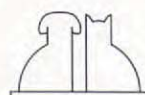




Fig. 9. Otro medio para ayuda en la recogida de citologías, sería el endoscopio con un cepillo especial. Lo utilizaremos tanto en el tracto digestivo como en el respiratorio.

Dependiendo de cuál de estas células se encuentre en mayor proporción, se clasificarán en:

- purulentas más de un 85 % de neutrófilos.
- piogranulomatosas, muchos neutrófilos junto con células gigantes inflamatorias y macrófagos epiteliales.
- granulomatosas, células inflamatorias gigantes y macrófagos, con pocos neutrófilos.
- eosinofílicas o alérgicas, más de un 10 % de eosinófilos.

También podemos clasificar el proceso inflamatorio como:

- agudo, más de un 70 % de las células son neutrófilos.
- subagudo o crónico activo, el 50-70 % son neutrófilos y el 30-50 % son macrófagos.
- crónico, cuando el 50 % de las células inflamatorias son macrófagos.

Las reacciones inflamatorias a veces producen hiperplasia en los tejidos que las rodean. Estas células hiperplásicas son células normales pero aparecen más inmaduras, teniendo un núcleo mayor y algún nucleolo, por lo que para diferenciar una hiperplasia de una neoplasia requiere un análisis histológico⁽²⁾.

Hay autores que, para diferenciar una inflamación de una neoplasia, tratan la lesión con antibióticos.

La inflamación se reducirá. Tomaremos otra muestra y comprobaremos que los elementos inflamatorios han desaparecido, dejándonos quizá más claro el diagnóstico de la neoplasia⁽⁴⁾.

NEOPLASIAS.

Las lesiones neoplásicas pueden clasificarse en:

- Epiteliales.
- Mesenquimales.
- Células redondas.

Con mucha frecuencia podemos encontrar neoplasia con inflamación secundaria.

También es posible que no podamos identificar el tumor, por lo que seremos muy cuidadosos en dar un tumor como benigno cuando la célula no ha sido bien reconocida⁽⁴⁾.

La evaluación del tipo de célula tumoral se basa en el tamaño, forma y características de exfoliación, es decir, si se trata de células que exfolian en racimos, grupos, sueltas, etc.⁽⁴⁾.

Hay diferentes criterios para evaluar la malignidad celular: nucleares y citoplasmáticos. Los citoplasmáticos también pueden presentarse en alteraciones no neoplásicas como en procesos inflamatorios, por lo que generalmente nos fijamos más en los criterios de malignidad nuclear⁽³⁾, como son variaciones en el tamaño del núcleo, aspecto de la cromatina, número, tamaño y forma de los nucleolos o incremento de figuras mitóticas^(1, 4).

La multinucleación se considera signo de malignidad si los núcleos son anómalos y la presencia de mitosis alteradas se asocia también con neoplasias malignas⁽²⁾.

En general, las células neoplásicas son mayores y más pleomórficas que las células normales del mismo tipo, suelen tener mayor relación núcleo-citoplasma y presentarse en distintos estados de maduración⁽²⁾.

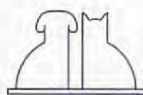
En las neoplasias benignas, las células aparecen de tamaño y forma uniforme, con nucleolos pequeños y de aspecto regular⁽²⁾.

Tumores epiteliales.

Exfolian en grupos, aunque podemos también ver algunas células sueltas. Las células suelen ser grandes, con moderado o abundante citoplasma y núcleo redondo.

El núcleo contiene uno o más nucleolos que se hacen de mayor tamaño y de forma más irregular cuanto más maligno sea el tumor. El aspecto de la cromatina se hace más grumoso y suele incrementarse la relación núcleo citoplasma al aumentarse la malignidad.

A este grupo pertenecen los carcinomas⁽⁸⁾.



Tumores mesenquimales.

Estos son los tumores de células fusiformes. Exfolian en células sueltas o en grupos no organizados, pero suelen exfoliar mal, por lo que a veces pinchamos sin obtener apenas muestras representativas. Los núcleos son pequeños o medianos, redondos u ovales.

Al hacerse más malignas, se hacen más prominentes los nucleolos, el aspecto de la cromatina se vuelve menos liso, se hace menos evidente la forma fusiforme, aumentando la relación núcleo citoplasma, por lo que el tamaño y forma celular, nuclear y nucleolar varían marcadamente.

Los tumores de células mesenquimales son, a menudo, difíciles de nombrar citológicamente, siendo necesario biopsiarlos para poder clasificarlos.

En este grupo incluimos los sarcomas.

Tumores de células redondas.

En este grupo se incluyen los mastocitos, linfosarcomas, plasmocitos, histiocitos y tumores de células transmisibles.

Se trata de células redondas con márgenes citoplasmáticos bien definidos, exfolian bien, obteniéndose gran cantidad de células aisladas ya que no tienen uniones célula-célula (Figs. 1d, 5c).

Efusiones torácicas y abdominales.

Pueden estar causadas por trauma, infección, fallo cardíaco o hepático, hipoproteínea o neoplasia.

Se clasifican en transudados, transudados modificados o exudados, según el porcentaje de proteínas y el número de células y el tipo de éstas^(2, 4).

Se recogerá el fluido en un tubo de EDTA y realizaremos un conteo total de células nucleadas. Las muestras que tienen menos de 10.000

cs/ml se centrifugan y hacemos una extensión con el sedimento, para examinar las células⁽⁶⁾.

En estos fluidos podemos encontrar gran variedad de células no neoplásicas como neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, células mesoteliales, macrófagos, células plasmáticas y mastocitos que, en general, serán fácilmente reconocidos citológicamente.

También podemos identificar células neoplásicas en estos líquidos corporales. Por ejemplo, el linfoma mediastinal es una causa común de efusiones neoplásicas⁽²⁾.

Transudados son fluidos que se acumulan como resultado de una pérdida pasiva desde el torrente circulatorio hasta la cavidad corporal, ya sea abdomen o tórax.

Encontramos escasa celularidad y son casi exclusivamente mononucleares.

La acumulación de grandes cantidades de transudado produce la exfoliación de células mesoteliales. El transudado es, biológicamente, un perfecto medio de cultivo, en el que las células mesoteliales pueden dividirse y transformarse. A veces, no se dividen totalmente y forman agrupaciones.

Las células mesoteliales, al transformarse pueden aparecer con un reborde en forma de cepillo, similar al que a veces presentan las células de un carcinoma, siendo por tanto difíciles de diferenciar de células neoplásicas.

El conocimiento de qué tipo de tumores producen efusiones y qué formas celulares se encuentran habitualmente, nos ayudará⁽⁷⁾.

Los exudados se forman activamente, debido a una reacción como inflamación o neoplasia⁽⁸⁾.

CONCLUSIÓN.

En nuestra experiencia de doce años y con más de tres mil citologías realizadas, podemos constatar que se trata de una técnica fácil, rápida y barata que nos ayuda en la clínica diaria, que no pretende sustituir a las biopsias sino complementarlas.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Atlas and text of aspiration biopsy cytology. Kenneth C. Suen.
2. Cytologic diagnosis of neoplasia. Maxey L. Wellman Veterinary Clinics of North America: *Small Animal Practice* 1990; 20: 4.
3. Cytology of the dog and cat V. Perman, R. Alsaker American Animal Hospital Association.

4. Diagnostic cytology. Cowell y Tyler.
5. Handbook of veterinary cytology. A.H. Rebar.
6. Manual of small animal oncology. British Small Animal Veterinary Association.
7. Manual of laboratory techniques. British Small Animal Veterinary Association.
8. Punción con aguja fina. T. Miralles.

